

Trabajos Seleccionados

PRESENTACIONES ORALES

O4 Efecto del INGAP-PP sobre la expresión de genes involucrados en la remodelación de la matriz extracelular y la angiogénesis determinados por un análisis transcriptómico de islotes de ratas

Bárbara Maiztegui¹, Carolina Román¹, Agustín Romero², Ana Carolina Heidenreich², Juan José Gagliardino¹, Luis Emilio Flores¹, Santiago Andrés Rodríguez Seguí²

¹CENTRO DE ENDOCRINOLOGÍA EXPERIMENTAL Y APLICADA (CENEXA), UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA (UNLP)-CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET), LA PLATA, PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA; ²INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA, BIOLOGÍA MOLECULAR Y NEUROCIENCIAS (IFIBYNE), CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET), CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

Contacto: barmaiztegui@hotmail.com

Introducción: el INGAP-PP es un péptido derivado de INGAP que, en animales normales y con diabetes, aumenta la masa celular β , la capacidad angiogénica insular y potencia la secreción de insulina estimulada por glucosa (SIEG) y otros secretagogos. Esto le adjudica un potencial terapéutico que actuaría específicamente en la patogenia celular de la diabetes. Conocer su posible efecto sobre los cambios globales en los perfiles de expresión génica insular facilitaría la comprensión de su mecanismo de acción.

Objetivos: conocer, a través de un estudio transcriptómico, el efecto del INGAP-PP sobre la expresión génica de las células insulares y la posible regulación de distintas vías de señalización implicadas.

Materiales y métodos: islotes aislados (colagenasa) de rata Wistar normales fueron cultivados 4 días en medio RPMI en ausencia (C) o presencia de INGAP-PP 50 μ g/ml (I) y glucosa 11 mM. A su término se utilizaron 100 islotes de cada grupo para estudiar la SIEG en presencia de glucosa 3,3 mM ó 16,6 mM (RIA). Del resto de los islotes se extrajo ARN total, una alícuota fue sometida a secuenciación masiva de ARN (RNA-seq) y otra fue retrotranscripta a ADNc para utilizarlo como molde en qPCR de marcadores de desarrollo, regeneración y angiogénesis.

Resultados: la presencia de INGAP-PP en el medio de cultivo potenció la SIEG sólo en presencia de glucosa 16,7 mM: C= $5,1 \pm 0,2$ vs I= $6,6 \pm 0,3$ ng ins/ μ g ADN/h ($p < 0,05$). Los islotes I mostraron un aumento significativo de la expresión génica de marcadores de desarrollo como NKX6.1 (26%) y PDX-1 (42%). Por RNA-seq observamos que INGAP-PP moduló significativamente ($p < 0,05$) la expresión de 1.303 genes insulares. Estos genes diferencialmente expresados se relacionaron a distintas vías funcionales, tales como remodelación de la matriz extracelular y angiogénesis, reforzando nuestros resultados previos y demostrando el efecto de INGAP-PP sobre la expresión de VEGF-A (60%), laminina (40%) e integrina (50%). En tal sentido, surgieron muchos otros genes relacionados con el desarrollo y la neoformación insular (como la morfogénesis ramificada o el desarrollo túbulo-epitelial) que abren posibilidades de nuevos estudios.

Conclusiones: estos resultados confirman los previamente descriptos por nuestro grupo sobre el efecto de INGAP-PP sobre la regeneración celular β , la remodelación de la matriz extracelular y angiogénesis, posibilitando la identificación de nuevos genes afectados por este péptido y ampliando su efecto modulador sobre la masa y función celular β y su posible uso terapéutico para la prevención y tratamiento de la diabetes.

04 Effect of INGAP-PP on the expression of genes involved in extracellular matrix remodeling and angiogenesis determined by a transcriptomic analysis in rat islets.

Bárbara Maiztegui¹, Carolina Román¹, Agustín Romero², Ana Carolina Heidenreich², Juan José Gagliardino¹, Luis Emilio Flores¹, Santiago Andrés Rodríguez Seguí²

¹CENTER OF EXPERIMENTAL AND APPLIED ENDOCRINOLOGY (CENEXA), UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA (UNLP) -NATIONAL COUNCIL OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL INVESTIGATIONS (CONICET), LA PLATA, PROVINCE OF BUENOS AIRES, ARGENTINA; ²INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, MOLECULAR BIOLOGY AND NEUROSCIENCES (IFIBYNE), NATIONAL COUNCIL OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL RESEARCH (CONICET), AUTONOMOUS CITY OF BUENOS AIRES, ARGENTINA

Contacto: barmaiztegui@hotmail.com

Introduction: INGAP-PP is a peptide derived from INGAP that, in normal and diabetic animals, increases β cell mass, insular angiogenic capacity and enhances insulin secretion stimulated by glucose and other secretagogues. This makes it a therapeutic tool that would act specifically in the cellular pathogenesis of diabetes. Knowing its possible effect on global changes in insular gene expression profiles would facilitate the understanding of its mechanism of action.

Aim: to know, through a transcriptomic study, the effect of INGAP-PP on islet gene expression and the possible regulation of different signaling pathways involved.

Materials and Methods: Isolated islets (collagenase) of normal Wistar rats were cultured for 4 days in RPMI medium in the absence (C) or presence of INGAP-PP 50 μ g / ml (I) and glucose 11 mM. At the end, 100 islets from each group were used to study insulin secretion at 3.3 mM or 16.6 mM glucose (RIA). Total RNA was extracted from the rest of the islets, one aliquot was subjected to massive RNA sequencing (RNA-seq) and the other was used to measure gene expression level by RT-qPCR of key genes modulated by INGAP-PP involved in development, regeneration, and angiogenesis pathways.

Results: The presence of INGAP-PP in the culture medium enhanced insulin secretion only at 16.7 mM glucose: C = 5.1 ± 0.2 vs. I = 6.6 ± 0.3 ng ins / μ g DNA / h ($p < 0.05$). I islets showed a significant increase in the developmental markers gene expression, such as NKX6.1 (26%) and PDX-1 (42%). By RNA-seq we observed that INGAP-PP significantly modulated ($p < 0.05$) the expression of 1303 islet's genes. These differentially expressed genes were related to different functional pathways, such as extracellular matrix remodeling and angiogenesis, reinforcing our previous results showing its positive effect upon VEGF-A (60%), laminin (40%) and integrin (50%) gene expression. In this sense, many other genes related to development and insular neoformation emerged (such as branched morphogenesis or tubulo-epithelial development) that open possibilities for new studies.

Conclusions: These results confirm those previously described by our group on the effect of INGAP-PP on β cell regeneration and angiogenesis, enabling the identification of new genes affected by this peptide and expanding its modulating effect on β cell function and mass and its possible therapeutic use for the prevention and treatment of diabetes.